

## 低酸素暴露動物および高血圧動物における気道粘膜の動態

Changes in airway mucosa in chronically hypoxic rats and  
spontaneously hypertensive rats磯 中 理 沙\*, 川 上 倫\*, 松 田 秀 樹\*\*  
林 田 嘉 朗\*\*\*, 日下部 辰 三\*\*\*\*Risa ISONAKA, Tadashi KAWAKAMI, Hideki MATSUDA\*\*  
Yoshiaki HAYASHIDA\*\*\* and Tatsumi KUSAKABE\*\*\*\*

各種スポーツ領域で高地トレーニングは盛んに行なわれている。高所（低酸素環境）で一定期間トレーニングすることにより、身体の酸素運搬系メカニズムを亢進させ、競技成績向上に結びつけようとするものである。この観点から、これまでに臓性知覚系である動脈系化学受容器（頸動脈小体）を対象に低酸素への順応メカニズムの解明について基礎医学的のみならず臨床医学的検討を加え、数多くの成果を集積して来た。一方、体性知覚系器官の感受性の変化については未知の部分が多い。そこで本研究では、2種類の病的環境下（低酸素環境および高血圧）において、体性知覚系である気道粘膜とその関連神経節を対象に、各種神経マーカーおよびカルシウム結合タンパクの動態変化を免疫組織化学的に検討し、高地トレーニング時の知覚神経メカニズムの動態変化を明らかにすることを目的とした。高地順応過程における気道粘膜の動態を、特に、呼吸・循環機能との関わりにおいて総合的に検討し、さらなる基礎的研究データを提供する為に、1）喉頭粘膜を3部位（喉頭蓋、披裂部、声帯）に分け、SPおよびCGRP含有神経線維の分布を免疫組織化学的に比

較、2）喉頭粘膜内に見られる化学受容器（味蕾）に着目し、SPとCGRPの二重標識を用いた検討、3）喉頭味蕾を対象に、カルシウム結合タンパクである calbindin D-28k の局在を免疫組織化学的に検討し、さらに、高血圧との関連において、4）高血圧ラット喉頭粘膜における calbindin D-28k の局在についても免疫組織化学的に検討を行った。

得られた結果の要約を以下に示す。

1）低酸素環境下（図1）の喉頭粘膜内および粘膜直下のSPおよびCGRP免疫陽性神経線維数は増加した（表1）。特に、喉頭蓋や披裂軟骨部位では顕著であり、多くの陽性線維が管腔近くまで侵入していたが、声帯部では大きな変化は認められなかった。粘膜固有層の喉頭腺周囲のSPおよびCGRP陽性線維数も増加した。ペプチド性神経支配の変化は低酸素環境への順応を示す形態学的変化の一つであると考えられる。低酸素環境下の鼻粘膜および気管におけるペプチド性神経支配の変化を考え合わせると、粘膜上皮内のSPおよびCGRP線維の増加は、上気道および下気道を通

\* 北里大学医学部生理学 (Department of Physiology, Kitazato University School of Medicine)

\*\* 横浜市立大学医学部耳鼻咽喉科 (Department of Otolaryngology, Yokohama City University School of Medicine)

\*\*\* 四天王寺大学教育学部教育学科 (Faculty of Education, Shitennoji University)

\*\*\*\* 国士舘大学体育学部スポーツ医科学科 (Department of Sport and Medical Science, Kokushikan University)



	PO <sub>2</sub> (mmHg)	PCO <sub>2</sub> (mmHg)	pH
Control	94.0±2.3	36.1±1.1	7.43±0.01
Hypocapnic Hypoxia	36.2±0.6*	22.0±0.8*	7.58±0.02*

Values are Mean±SD of 6 rats. \* p<0.05

図1 低酸素暴露装置および血液ガス組成

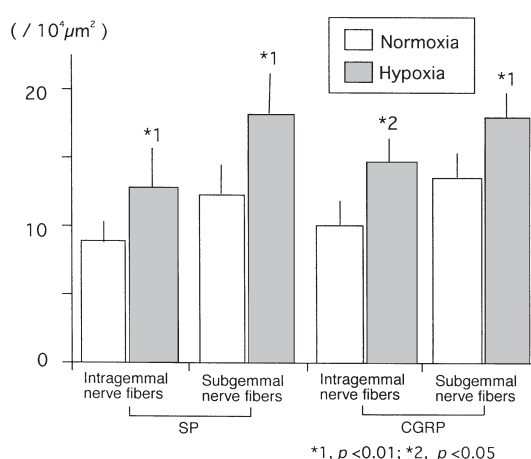


図2 低酸素暴露装置および血液ガス組成

表1 正常環境下ならびに低酸素環境下のラット気道粘膜におけるペプチド性神経線維の分布

	SP		CGRP	
	Normoxia	Hypoxia	Normoxia	Hypoxia
Epiglottis				
Intraepithelium	+	+++	++	+++
Subepithelium	+++	++++	+++	++++
Arytenoid				
Intraepithelium	+	++++	+++	++++
Subepithelium	++	+++	++	+++
Vocal cord				
Intraepithelium	-	-	-	-
Subepithelium	+	+	+	+

Grading of frequency of immunoreactive nerve fibers: - absent, + a few, ++ moderate number, +++ many, ++++ abundant

した特徴であると思われる。さらに、呼吸器系器官の粘膜上皮内のSPおよびCGRP線維は知覚系の性質を持つことから、低酸素環境下の喉頭粘膜における気道系防御機構に関わる知覚機構は亢進していることが推測される。喉頭腺周囲のSPおよびCGRP陽性線維数の増加もまた気道系防御機構に関与しているものと推測される。

2) ラット喉頭粘膜上皮内に見られる味蕾に存在する味蕾内、味蕾直下および周囲のSPおよびCGRP免疫陽性神経線維数は、低酸素暴露により

増加した(図2)。低酸素環境に順応した結果であると考えられる。大部分のCGRP線維はSPとの共存を示した。低酸素暴露中のラットの飲水量は、正常環境下のラットに比較して有意に少なかった。喉頭の味蕾は水受容に関与しているという推測があるが、今回の結果はこの推測を支持すると共に、喉頭味蕾の水受容はペプチド性神経支配のコントロール下にあるものと思われる。

3) 正常環境下ラットでは、calbindin D-28k免疫活性は舌有郭乳頭の味蕾内細胞および神経線維に認められるが、喉頭味蕾では味蕾直下の神経線維には認められるが、味蕾内細胞には認められなかった(表2)。低酸素暴露ラットでは、有郭乳頭の味蕾内細胞および神経線維におけるcalbindin D-28k免疫活性は減少し、喉頭味蕾では味蕾直下の免疫陽性線維の分布密度は正常環境下ラットに比べ高かった。これらの所見から、喉頭味蕾の機能は舌味蕾の機能とは異なり、味覚の知覚よりは

むしろそれ以外の何らかの化学受容に関わる可能性が考えられる。低酸素暴露による舌および喉頭味蕾における calbindin D-28k 免疫活性の顕著な変化は、長期低酸素暴露が舌および喉頭味蕾における細胞内カルシウムイオン調節を介した化学受容機序を変化させている可能性が示唆される。

4) 既に報告されているように、calbindin D-28k 免疫陽性反応は、喉頭上皮内の味蕾細胞および固有層に認められた。SHR の味蕾における calbindin D-28k 陽性細胞数は WKY に比べ多く、SHR の固有層における calbindin D-28k 陽性線維は WKY に比べ少なかった (表 3)。低酸素環境下の結果と比較すると、味蕾細胞と固有層の両者で免疫活性が低下していたのに対し、高血圧環境下の味蕾では陽性細胞は増加し逆の結果を示した。SHR では NaCl に対する感受性が低下しているという報告があるとともに、味蕾細胞における calbindin D-28k は、特殊な味覚刺激に対する反応ではないかと推測される。これらの点を考慮すると、SHR の味蕾細胞における calbindin D-28k の増加は、求心性線維を介した味覚感受性の低下により、末梢受容器レベルにおける体内の電解質の恒常性を維持する為の適応ではないかと推察される。

内因性環境変化 (低酸素暴露) および外因性環境変化 (高血圧) という 2 つの病理学的状況下で、気道粘膜の動態をカルシウム結合タンパクとの関わりにおいて各種神経支配の変化を検討したが、気道粘膜におけるペプチド性神経支配の増加は、気道系防御機構に関わる知覚機構の亢進を示唆し、化学受容細胞における水受容もまた同神経支配の影響下にあると推測された。これらの動態変

表 2 正常環境下ならびに低酸素環境下のラット舌および喉頭の味蕾における calbindin D-28k 免疫陽性線維の分布

	WKY	SHR
Circumvallate papillae		
Taste buds	+	++
Intragemmal nerve fibers	+	+
Subgemmal nerve fibers	±	±
Lamina propria	+++	+

Grading of frequency of immunoreactive nerve fibers: ± very few, + a few, ++ moderate number, +++ many

表 3 正常環境下 (WKY) および高血圧ラット (SHR) 舌および喉頭の味蕾における calbindin D-28k 免疫陽性線維の分布

	Normoxia	Hypoxia
Circumvallate papillae		
Taste buds	++	+
Intragemmal nerve fibers	++	+
Subgemmal nerve fibers	±	±
Lamina propria	+++	+
Larynx		
Taste buds	-	-
Intragemmal nerve fibers	±	±
Subgemmal nerve fibers	+	++
Lamina propria	+	+

Grading of frequency of immunoreactive nerve fibers: - absent, ± very few, + a few, ++ moderate number, +++ many

化は、細胞内カルシウムを介した化学受容機構の変化による可能性についても推測された。さらに、舌の化学受容機構におけるカルシウム結合タンパク含有神経線維の変化は、体内電解質の恒常性維持に対する適応である可能性についても検討を加えた。得られた成果は、呼吸・循環機能との関連で、高地トレーニングにおける基礎医学的データを提供しうるものであると考えられる。

本研究は国士舘大学体育学部体育研究所・平成 23 年度研究助成ならびに、一部、日本学術振興会・平成 21-23 年度科学研究費 (基盤研究 C) 助成により行なわれた。